

Zusammenfassung

Die Haut ist das größte Organ des Körpers. Sie schützt den Organismus vor dem Eindringen von Mikroorganismen und vor UV-Schäden, sie verhindert die Austrocknung des Organismus, sie reguliert die Körpertemperatur und sie ist Teil des Immunsystems. Die Haut besteht aus Epidermis und Dermis, die durch eine Basalmembran getrennt sind. Die Bildung der Epidermis wird über das Zusammenspiel mit der angrenzenden Dermis reguliert, ein Prozess, in dem die dermo-epidermale Basalmembran eine entscheidende Rolle spielt. Nidogen-1 und -2 sind ubiquitäre Basalmembranproteine. Basierend auf *in vitro* Bindungsstudien wurde Nidogen eine zentrale Rolle bei der Basalmembranbildung zugesprochen. Die Untersuchungen in Mäusen mit genetischer Deletion der Nidogen-1 oder Nidogen-2 Expression zeigten, dass keine der Nidogen-Isoformen für die Basalmembranbildung und für die Organogenese notwendig ist, was auf komplementäre Funktionen dieser beiden Proteine schließen lässt. Tatsächlich konnte dies in Mäusen, denen beide Nidogen-Isoformen fehlen, gezeigt werden. Diese Mäuse sterben kurz nach der Geburt und zeigen eine Vielzahl von Organfehlbildungen, die wahrscheinlich direkt auf die Basalmembrandefekte in diesen Geweben zurückzuführen sind.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Hautentwicklung und Morphogenese in Abwesenheit beider Nidogen-Isoformen detailliert zu analysieren und herauszuarbeiten, ob die beiden Nidogen-Isoformen bei Umbauprozessen in der Haut identische Funktionen haben. Obwohl ultrastrukturell Defekte in der dermo-epidermalen Basalmembran sowie in den Basalmembranen der Kapillaren (Mikroblutungen) festgestellt wurden, konnten hinsichtlich der epidermalen Differenzierung, der Zusammensetzung der dermo-epidermalen Basalmembranzone und des Aufbaus der Dermis keine Unterschiede zwischen den Nidogen defizienten Tieren und den Kontrollen festgestellt werden. Basierend auf den ultrastrukturellen Defekten ist es jedoch sehr wahrscheinlich, dass die weitere Hautreifung durch die Abwesenheit der beiden Nidogen-Isoformen erheblich gestört sein wird. Um dies weiter untersuchen zu können, werden zurzeit genetisch veränderte Nidogen-Mauslinien hergestellt, die eine hautspezifische Deletion der beiden Nidogen-Isoformen ermöglichen.

Wundheilungsexperimente in Nidogen-1 defizienten Tieren zeigten Unterschiede in den Funktionen der beiden Nidogen-Isoformen auf. In den Nidogen-1 defizienten Tieren kam es im Vergleich zu den Kontrolltieren zu einer Verzögerung sowohl im Umbau der neugebildeten Epidermis als auch im Umbau des Granulationsgewebes. Diese Ergebnisse deuten auf unterschiedliche Funktionen der beiden Nidogen-Isoformen bei Umbauprozessen in der Haut hin, die zeitlich nicht effizient durch Nidogen-2 kompensiert werden können. Diese zeitlich begrenzte Verzögerung des Umbauprozesses könnte auf eine verzögerte Basalmembranbildung in Abwesenheit von Nidogen-1 zurückzuführen sein, die wiederum das

Zusammenspiel zwischen der neugebildeten Epidermis und dem angrenzenden Granulationsgewebe beeinflusst. Hinsichtlich der Barrierefunktion der endothelialen Basalmembranen für inflammatorische Zellen und Tumorzellen konnten in den Nidogen-1 defizienten Tieren keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrolltieren festgestellt werden. Dies deutet daraufhin, dass Nidogen-2 alleine in der Lage ist, die Integrität und Funktion der endothelialen Basalmembranen zu gewährleisten.

Zusammenfassend haben diese Untersuchungen erste Hinweise auf unterschiedliche Funktionen von Nidogen-1 und Nidogen-2 in der Haut ergeben. Um jedoch detailliertere Kenntnisse über die biologischen Funktionen der einzelnen Nidogen-Isoform zu erhalten, müssen noch weitergehende Studien durchgeführt werden.

Abstract

Skin is the largest body organ. It serves as a shield against microorganisms, invasion and UV irradiation, prevents dehydration, regulates body temperature and is part of the immune system. It consists of two distinct tissues, epidermis and dermis that are separated by a basement membrane. The formation of mature epidermis is regulated by the cross talk with the adjacent connective tissue which involves the dermo-epidermal basement membrane. Nidogen-1 and -2 are ubiquitous basement membrane proteins. *In vitro* binding assays and functional studies have assigned a major role for nidogen in basement membrane assembly. However, gene-knockout studies in mice demonstrated that neither nidogen-1 nor nidogen-2 affect basement membrane formation and organ development, suggesting complementary functions. This is indeed the case as shown by deletion of both nidogen isoforms in mice. These mice die shortly after birth due to delayed lung development and defects in heart tissue. Ultrastructural analysis suggests that these phenotypes directly result from basement membrane changes. Despite of the ubiquitous presence of nidogens in basement membrane defects do not occur in all tissues or in all basement membranes, suggesting a varying spectrum of roles for nidogens in the basement membrane.

The goal of the presented studies was to analyse skin development in the absence of both nidogen isoforms and to investigate whether nidogen-1 and -2 have indeed identical functions in skin remodelling and for cell passage through basement membranes. Even though severe defects of the dermo-epidermal basement membrane and basement membranes of small blood vessels were observed ultrastructurally in double-null mice, neither changes nor defects could be detected with regard to epidermal differentiation, composition of the dermo-epidermal basement membrane zone, and structure of the dermis during skin development. However, based on the ultrastructural changes in the skin basement membrane it is very likely that further skin development in these mice will be severely hampered by the lack of nidogens. To

analyse this further nidogen deficient mouse strains are currently generated which will allow a skin specific knockout of both nidogen isoforms.

Wound healing experiments in nidogen-1 deficient mice revealed differences in the function of the two nidogen isoforms during tissue remodelling. Histological analysis demonstrated a delay in the differentiation of the newly formed epidermis along with a delay in remodelling of the granulation tissue. These results suggest different functions for nidogen-1 which cannot be efficiently compensated in time by nidogen-2. This temporally limited delay in wound remodelling might be due to a delay in basement membrane formation in the wound area in the absence of nidogen-1 which in turn might influence the cross talk between the newly formed epidermis and the adjacent granulation tissue. The barrier function of basement membranes for the passage of inflammatory as well as tumor cells was comparable in nidogen-1 deficient and wild type mice. This indicates that the presence of nidogen-2 is sufficient for the integrity and function of the basement membranes of blood vessels.

Taken together these results provide first evidence for different functions of nidogen-1 and nidogen-2 in skin biology. However, further studies will be needed to get more detailed insight into the functions of the single nidogen isoform *in vivo*.